

Міністерство освіти і науки України  
Національний університет водного господарства та  
природокористування  
Кафедра водопостачання, водовідведення та бурової справи

**03-06-193М**

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ**

до виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни  
«Біотехнології очищення води»  
для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня  
за освітньою програмою  
«Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика»  
спеціальності G21 «Біотехнології та біоінженерія»  
денної форми навчання

Рекомендовано науково-  
методичною радою  
з якості ННІБАД  
Протокол № 6 від 17.02.2026 р.

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Біотехнології очищення води» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньою програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності G21 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми навчання [Електронне видання] / Квартенко О. М., Романенко Т. В. – Рівне : НУВГП, 2026. – 35 с.

Укладачі: Квартенко О. М., д-р. техн. наук, доцент, професор кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи; Романенко Т. В., завідувач гідрохімічної лабораторії кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Відповідальний за випуск: Мартинов С. Ю., доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Керівник (гарант) ОП: Бедункова Ольга Олександрівна, доктор біологічних наук, професор, професор кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

© О. М. Квартенко,  
Т. В. Романенко, 2026  
© НУВГП, 2026

## ЗМІСТ

Вступ	4
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №1. <b>Визначення параметрів активної реакції, загальної жорсткості, лужності та мінералізації природних вод.</b>	4
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2. <b>Визначення показників кількості легкоокислюваних органічних та неорганічних речовин у природних та стічних водах. Визначення величин БСК та ХСК.</b>	8
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3. <b>Вивчення токсичної дії ксенобіотиків на мікроорганізми. Визначення концентрації фенолів та поверхнево активних речовин у природних та стічних водах.</b>	19
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №4. <b>Моделювання процесу біологічної очистки стічних вод з вмістом фенолів.</b>	24
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №5. <b>Використання методу оптичної мікроскопії для експрес-аналізу біоценозу активного мулу очисних споруд. Визначення дози активного мулу.</b>	27
Рекомендована література	30
Додатки	32

## ВСТУП

Дисципліна «Біотехнології очищення води» надає здобувачам теоретичні знання та практичні навички з вивчення фізичних та біологічних аномалій води; основних фізико-хімічних та бактеріологічних показників якості природних вод та оборотних вод підприємств харчової, легкої, фармацевтичної, хімічної, нафтопереробної промисловості; ознайомлення з існуючими в природі, або генетично створеними мікроорганізмами здатними до розкладання та мінералізації штучно синтезованих органічних сполук, включаючи їх в кругообіг елементів у Біосфері; опанування методами виділення культур бактерій деструкторів; вивченню особливостей мікробіологічної трансформації окремих класів органічних ксенобіотиків та можливостей існуючих біотехнологій що до їх вилучення; вивчення особливостей конструкцій, принципів розрахунку споруд в галузі.

### ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №1

#### **Визначення параметрів активної реакції, загальної жорсткості, лужності та мінералізації природних вод.**

**Мета роботи:** ознайомлення із стандартними методиками та визначення параметрів активної реакції, карбонатної, загальної жорсткості та лужності в пробах природної води.

**Матеріальне забезпечення:** лабораторний рН-метр, колби конічні місткістю 250 см<sup>3</sup>; піпетки різної місткості; бюретки місткістю 25 см<sup>3</sup>, штативи для бюретонок. *Реактиви:* 0,1 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту розчин соляної кислоти, 0,5% розчин фенолфталеїну, 0,05% розчин метилового оранжевого, 0,1 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту розчин трилону Б, аміачний буферний розчин (рН = 10), індикатор еріохром чорний Т, розчин сульфід натрію, розчин солянокислого гідроксиламіну, 0.1 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту розчин сірчанокислого магнію.

**Загальні відомості:** [2; 5; 6; 10, стор. 11-20].

#### **Визначення рН розчину електрометричним методом**

##### **Хід роботи**

Вимірювання рН води проводять безпосередньо після відбору проби із джерела водопостачання. Це пов'язано із тим, що в результаті проходження цілого ряду хімічних, фізичних і біохімічних процесів у пробі відбувається зміна параметрів рН. Для вимірів використовують лабораторний рН-метр. Перед визначенням електроди необхідно ретельно промити дистильованою водою та просушити паперовим фільтром.

На першому етапі необхідно визначити температуру. За показаннями термометра рН-метра ручкою “Температура розчину” виставляють її значення.

На другому етапі визначають безпосередньо величину рН. Опускають електроди в склянку з досліджуваною водою, натискають кнопку діапазону вимірювання “1 – 14” та за нижньою шкалою приладу, в першому наближенні, визначають величину рН. Далі необхідно натиснути кнопку відповідного діапазону рН та знайти його значення за однією з верхніх шкал з точністю до 0,05. Після закінчення визначення рН електроди промивають дистильованою водою та занурюють для зберігання в склянку з дистиллятом.

### **Методика визначення загальної жорсткості води.**

#### **Хід роботи**

На першому етапі в конічну колбу наливають 100 см<sup>3</sup> вихідної води. Потім додають 5 см<sup>3</sup> буферного розчину та 5-7 крапель індикатора і одразу ж титрують розчином трилону Б до зміни забарвлення у еквівалентній точці з лілового до синього. Під час титрування досліджувану пробу необхідно сильно збовтувати.

Якщо на титрування було витрачено більше 10 см<sup>3</sup> розчину трилону Б то це вказує, що у відміряному об’ємі води сумарний вміст катіонів Ca<sup>2+</sup> і Mg<sup>2+</sup> більше 5 ммоль/дм<sup>3</sup>. У такому випадку необхідно провести повторне визначення величини загальної жорсткості води, взявши дещо менший об’єм і довівши його до 100 см<sup>3</sup> дистильованою водою.

Визначення *кальцієвої жорсткості* ґрунтується на утворенні іонами Ca<sup>2+</sup> з мурексидом малодисоційованого стійкого при рН = 10...12 комплексу малинового кольору. При подальшому титруванні проби трилоном Б кальцій утворює з ним ще менш дисоційований комплекс. Вільна форма мурексиду, що виділяється при цьому, забарвлює воду в фіолетовий колір.

### **Методика визначення кальцієвої жорсткості води.**

#### **Хід роботи**

В конічну колбу місткістю 250 см<sup>3</sup> наливають 100 см<sup>3</sup> досліджуваної води та для утворення необхідного рН додають 2 см<sup>3</sup> 10%-го розчину гідроксиду натрію. На наступному етапі необхідно внести декілька кристаликів сухої суміші мурексиду з хлоридом натрію, перемішати і повільно титрувати стандартним розчином трилону Б (0,1 ммоль/дм<sup>3</sup> еквіваленту) до зміни кольору малинового забарвлення у фіолетове.

Величина кальцієвої жорсткості,  $J_{Ca}$ , вимірюється у ммоль/дм<sup>3</sup> (мг-екв/дм<sup>3</sup>) та визначається за формулою:

$$J_{Ca} = \frac{V_1 \cdot C_1 \cdot 1000}{V_0} \quad (1)$$

де  $V_1$  – об'єм розчину трилону Б, витраченого на титрування, см<sup>3</sup>;  
 $C_1$  – концентрація розчину трилону Б, моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту;  $V_0$  – об'єм проби води, взятої для аналізу, см<sup>3</sup>.

Визначення карбонатної жорсткості ґрунтується на реакції іонів  $HCO_3^-$  із соляною кислотою в присутності індикатора: суміші бромкрезолового зеленого і метилового оранжевого (ISO 9963-1).

### **Методика визначення карбонатної жорсткості води.**

#### **Хід роботи**

В конічну колбу місткістю 250 см<sup>3</sup> наливають 100 см<sup>3</sup> досліджуваної води, додають 2-3 краплі розчину індикатору і перемішують. В результаті хімічних реакцій розчин набуває зеленувато-блакитного кольору. Отриману таким чином пробу титрують розчином соляної кислоти (0,1 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту) до зміни кольору на сірий.

Карбонатну жорсткість,  $J_k$ , обчислюють за формулою, ммоль/дм<sup>3</sup> (мг-екв/дм<sup>3</sup>):

$$J_k = \frac{V_1 \cdot C_1 \cdot 1000}{V_0} \quad (2)$$

де  $V_1$  – об'єм розчину соляної кислоти, який пішов на титрування, см<sup>3</sup>;  $C_1$  – концентрація розчину соляної кислоти, моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту;  $V_0$  – об'єм проби вихідної води, см<sup>3</sup>.

Отримані результати записують у таблицю 1:

Таблиця 1.

## Результати визначення жорсткості та лужності води

№№ проб	Об'єм проби для аналізу, см <sup>3</sup>	Об'єм 0,1 моль/дм <sup>3</sup> еквіваленту HCl на титрування з фенолфталеїном, см <sup>3</sup> (а)	Об'єм 0,1 моль/дм <sup>3</sup> еквіваленту HCl на титрування з метилом оранжевим, см <sup>3</sup> (б)	Об'єм 0,1 моль/дм <sup>3</sup> еквіваленту трилону Б, см <sup>3</sup>	Лужність за фенолфталеїном, мг-екв/дм <sup>3</sup> (Лф)	Лужність загальна, ммоль/дм <sup>3</sup> (Лзаг)	Жорсткість карбонатна, ммоль/дм <sup>3</sup> (Жкарб)	Жорсткість загальна, ммоль/дм <sup>3</sup> (Жзаг)	Жорсткість некарбонатна, ммоль/дм <sup>3</sup> (Жнекарб)
1									
2									
3									

**Методика визначення мінералізації природних вод.**

Мінералізацію води вимірюємо за допомогою солеміра або TDS-метра. Принцип дії TDS-метра заснований на прямій залежності електропровідності розчину (сили струму і постійному електричному полі, створюваному електродами приладу) від кількості розчинених у воді сполук (частин на мільйон 1 ppm = 1 мг/дм<sup>3</sup>).

**Прилади та реактиви.** Портативний кондуктомір; калібрувальні розчини солі NaCl (0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 1,0 г/дм<sup>3</sup>); досліджувані розчини.

**Хід роботи**

1. Готують буферні розчини відомою концентрацією солі NaCl та проби води, яка досліджується.
2. Вимірюють електропровідність буферних розчинів (E) у порядку її зростання і записують до таблиці 2:

Таблиця 2

## Результатів вимірювань

$\rho_{NaCl}$ , г/дм <sup>3</sup>	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
E, мсм/см						

3. Відповідно до даних таблиці будують калібрувальний графік в координатах ( $\rho_{NaCl}$ , г/дм<sup>3</sup> – E, см/см).

4. Проводять вимірювання електропровідності у досліджуваних пробах. Відкладають отримані значення на вертикальній осі графіка. Від відкладеної точки паралельно осі абсцис проводять пряму до перетину з калібровочною прямою. Далі проводять низхідну перпендикулярну лінію до перетину з віссю абсцис та знаходять величину мінералізації досліджуваної проби.

### **Контрольні запитання**

1. Методика визначення карбонатної жорсткості води. 2. Методика визначення загальної жорсткості води. 3. Сутність визначення рН розчину електрометричним методом. 4. При яких величинах рН відбувається забарвлення води у фіолетовий колір при титруванні проби трилоном Б. 5. Перерахуйте основні методи усунення жорсткості води. 6. Перерахуйте інгредієнти впливу на формування слабокислих та лужних вод. 7. Які солі зумовлюють постійну жорсткість води. 8. Як впливає величина активної реакції на корозійну активність води? 9. Класифікація природних вод за мінералізацією. 10. Які аніони зумовлюють гідрокарбонатну жорсткість води. Види лужності.

## **ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2**

### **Визначення показників кількості легкоокислюваних органічних та неорганічних речовин у природних та стічних водах. Визначення величин БСК та ХСК.**

**Мета роботи:** ознайомлення з методикою визначення перманганатної окисності води за методом Кубеля, порівняти отриманні результати з нормами гранично-допустимої концентрації (ГДК) для наданого виду досліджуваної води (питна, поверхнева).

**Матеріальне забезпечення та реактиви:** електроплитка, колби мірні місткістю 100, 500, 1000 см<sup>3</sup>, піпетки, циліндри мірні, колби конічні плоскодонні термостійкі місткістю 250 см<sup>3</sup>, бюретки для титрування місткістю 25 см<sup>3</sup>, воронки скляні, скляні кульки для рівномірного кипіння розчину. *Реактиви:* розчин перманганату калію 0,01 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту (готується з фіксаналу), щавлева кислота 0,01 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту (готується з фіксаналу), розчин (1:2) сульфатної кислоти, попередньо окисненої перманганатом калію до слабо рожевого забарвлення для видалення можливих відновників.

**Загальні відомості:** [3; 4, стор. 15-26; 7; 8; 10, стор. 20-23].

Перманганатна окисність (ПО) — це показник, який відображає концентрацію легкоокиснюваних органічних і частково неорганічних речовин у воді. Вона «з'являється» у джерелі в результаті потрапляння в нього сполук, які можуть вступити в реакцію з марганцівкою (перманганатом калію). Основними причинами появи перманганатної окисності є природні фактори: продукти розкладання рослинних і тваринних залишків (гумінові речовини та фульвокислоти, продукти розпаду), які є головною причиною високого значення ПО, особливо характерно для лісових озер, річок і колодязів поблизу боліт, потрапляння ґрунтових частинок і органіки у воду під час паводків або ярих дощів, потрапляння побутових і промислових стоків, добрив та пестицидів, що містять органіку. Хоча підземні води чистіші, підвищений ПО там буває при потраплянні ґрунтових вод, руйнуванні гідроізоляції свердловин або наявності поблизу нафтогазових родовищ, наявність у воді легкоокиснюваних солей заліза (II), нітритів, сірководню та сульфідів.

Норма перманганатної окисності в питній воді (ГДК) наводиться в Державному стандарті «ДСанПіН 2.2.4-171-10 Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною» і не повинна перевищувати  $5 \text{ мгО}_2/\text{дм}^3$ . Висока перманганатна окисність (зазвичай  $> 5 \text{ мг О}_2/\text{дм}^3$  для питної води) вказує на вміст потенційно шкідливих органічних сполук, які можуть погіршувати смак води, сприяти розвитку бактерій і утворювати токсичні сполуки при хлоруванні, а також вказує на те, що у водному розчині багато біологічних елементів - залізобактерій, гумінових кислот, інших органічних домішок. Вони зв'язують і утримують 2-валентне залізо, перешкоджаючи його переходу в інші форми.

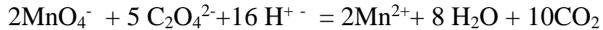
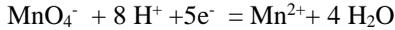
Для природних поверхневих вод з високим вмістом гумінових речовин ГДК для перманганатної окисності становить не більше  $7 \text{ мгО}_2/\text{дм}^3$

Для водойм господарсько-питного та культурно-побутового призначення ГДК зазвичай становить до  $5 \text{ мгО}_2/\text{дм}^3$

**Сутність методу.** Метод заснований на окисненні присутніх у пробі води речовин перманганатом калію в сірчаноокислому середовищі при кип'ятінні. Визначення перманганатної окисності проби проводиться титриметрично в присутності надлишку щавлевої кислоти.

Окисність води — це кількість атомарного кисню, еквівалентна кількості витраченого окиснювача ( $\text{KMnO}_4$ )

Визначення перманганатної окисності (метод Кубеля) полягає в окисненні речовини проби розчином перманганату калію в сульфатній кислоті. Після кип'ятіння в пробу додається стандартний розчин щавлевої кислоти, яка реагує із залишками перманганату калію. Надлишок щавлевої кислоти відтитровується стандартним розчином перманганату калію.



Визначення заважають хлориди (>300 мг/дм<sup>3</sup>), які можна маскувати добавкою сульфату ртуті (II). Залізо (II), сульфіді, нітрати також заважають визначенню. Вони визначаються іншими методами аналізу, а потім отримані значення вмісту цих домішок віднімаються від результату визначення перманганатного окиснення. 1 мг нітратів споживає 0,3 мг атомарного кисню, 1 мг заліза (II) - 0,14 мг кисню.

### Хід роботи

У конічну колбу місткістю 200-250 см<sup>3</sup> наливають піпеткою 100 см<sup>3</sup> досліджуваної води. Додають 5 см<sup>3</sup> розчину сульфатної кислоти (1:2) і ставлять на плитку. При появі перших бульбашок (початок кипіння) в пробу додають з бюретки точно 10 см<sup>3</sup> 0,01 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту розчину перманганату калію. Після цього пробу кип'ятять на малому вогні 10 хвилин. Для рівномірного кипіння рекомендується помістити в колбу кілька скляних капілярів, запаяних з одного кінця. Колбу при кип'ятінні прикривають скляною воронкою, яка виконує функцію зворотного холодильника. Якщо під час кип'ятіння досліджувана вода знебарвилася або втратила характерне малинове забарвлення перманганату калію, визначення треба почати спочатку, попередньо розбавивши досліджувану воду дистильованою водою.

Стандартизація титранту перманганату калію (встановлення титру) проводиться одночасно з аналізом. У шойно відтитровану пробу, що має температуру близько 50 – 60°C, знову додають 10 см<sup>3</sup> 0,01 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту розчину щавлевої кислоти і знову титрують розчином перманганату калію до появи слабо-рожевого забарвлення. Поправку до титру розчину КМnO<sub>4</sub> визначають із співвідношення:

$$K = \frac{10}{V} \quad (3)$$

де К - поправочний коефіцієнт до концентрації перманганату калію; 10 – об'єм розчину щавлевої кислоти, см<sup>3</sup>; V - об'єм розчину перманганату калію, см<sup>3</sup>

Якщо поправочний коефіцієнт до концентрації перманганату калію має значення від 0,995 до 1,005, його можна не враховувати.

Перманганатну окисність,  $\text{мгО}_2/\text{дм}^3$ , розраховують за формулою:

$$PO = \frac{[(V_1 + V_2) - V_3] \cdot N \cdot K \cdot 8 \cdot 1000}{V_{пр}} \quad (4)$$

де  $V_1$  - об'єм розчину перманганату калію, доданого на початку кипіння,  $\text{см}^3$ ;  $V_2$  - об'єм розчину перманганату калію, витраченого на титрування надлишку щавлевої кислоти,  $\text{см}^3$ ;  $V_3$  - об'єм розчину перманганату калію, витраченого на титрування  $10 \text{ см}^3$  щавлевої кислоти при встановленні титру,  $\text{см}^3$ ;  $K$  - поправочний коефіцієнт до концентрації перманганату калію;  $8$  - еквівалент кисню,  $\text{г/моль}$ ;  $V_{пр}$  - об'єм проби води, який взятий для аналізу,  $\text{см}^3$

Розрахунок проводять з точністю до  $0,1 \text{ мгО}_2/\text{дм}^3$ .

### *Хімічне споживання кисню (прискорений метод)*

**Мета роботи:** ознайомлення з методикою визначення біхроматної окисності води у вигляді показника ХСК (хімічного споживання кисню).

**Матеріальне забезпечення та реактиви:** електроплитка, колби мірні місткістю  $100, 500, 1000 \text{ см}^3$ , піпетки, циліндри мірні, колби конічні плоскодонні термостійкі місткістю  $100 \text{ см}^3$ , бюретки для титрування місткістю  $25 \text{ см}^3$ , воронки скляні, скляні кульки для рівномірного кипіння розчину. **Реактиви:** розчин біхромату калію  $0,1 \text{ моль/дм}^3$  еквіваленту, розчин солі Мора  $0,1 \text{ моль/дм}^3$  еквіваленту, сульфатна кислота концентрована, лужний розчин  $N$ -фенілантранілової кислоти, сульфат ртуті кристалічний, сульфат срібла кристалічний

**Загальні відомості.** ХСК або хімічне споживання кисню характеризує узагальнену величину кисню, необхідну для окиснення органічних сполук, що містяться у питних, поверхневих та стічних водах, хімічним шляхом. Інакше кажучи, дозволяє визначити необхідну кількість кисню, яка буде потрібна для перетворення органічного вуглецю в вуглекислий газ, азотовмісних речовин в аміак, а сірковмісних речовин в сірчастий ангідрид.

Кількісно ХСК виражається в міліграмах спожитого кисню, еквівалентних кількості окисника біхромату калію, на  $1 \text{ л}$  води ( $\text{мгО}_2/\text{дм}^3$ ) і використовується для оцінки рівня органічного забруднення природних і стічних вод. В даний час ХСК вважається одним з найбільш інформативних показників забруднення вод, а дані, отримані в лабораторіях, дають необхідні відомості про концентрації забруднень і їх характер.

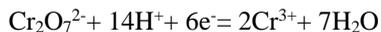
Хімічне споживання кисню (ХСК) у воді підвищується через наявність органічних речовин і деяких неорганічних сполук, що окиснюються сильними окиснювачами.

Основні причини підвищення ХСК є: скидання промислових стоків (жири, масла, хімікати), побутові стічні води, сільськогосподарські стоки, природний розпад органіки (залишки тварин/рослин) і витoki на очисних спорудах. Значення ХСК менше 10 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> свідчить про слабе забруднення води, ХСК в межах 10-20 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> — про середнє забруднення, а більш високі значення ХСК (до 65 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> і вище) характеризують сильне забруднення води і необхідність очищення.

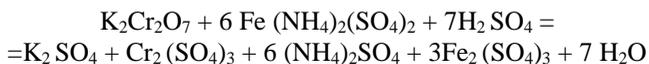
Для порівняння, величина ХСК питної води не перевищує 5 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>. Відповідно до вимог до складу і властивостей води водойм біля пунктів питного водокористування величина ХСК не повинна перевищувати 15 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>; в зонах рекреації у водних об'єктах допускається величина ХСК до 30 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>.

Значення показника ХСК є дуже важливим для налаштування технологічного процесу очищення стічних вод на очисних спорудах; для оцінки якості води в сфері водопідготовки та водопостачання; для нормативної оцінки стічної води, що скидається у водойми; в екологічному моніторингу об'єктів навколишнього середовища; для контролю стану води в рибицтві.

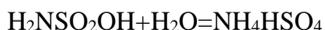
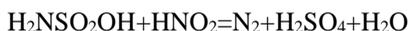
**Сутність методу.** Титриметричний метод визначення ХПК заснований на окисненні органічних речовин надлишком біхромату калію в розчині сульфатної кислоти при нагріванні в присутності каталізатора – сульфату срібла для прискорення процесу окиснення. При аналізі природних вод визначення проводять без каталізатора. Залишок біхромату калію знаходять титруванням розчином солі Мора і за різницею визначають кількість біхромату калію, витрачену на окиснення органічних речовин. Вміст органічних речовин відповідає еквівалентному споживанню молекулярного кисню. Біхромат при цьому відновлюється до солей хрому (III) згідно з рівнянням:



Кількість невитраченого на окиснення біхромату калію в розчині визначають титруванням сіллю Мора. При цьому протікає окисно-відновна реакція:



Заважаючий вплив хлоридів, що окиснюються в процесі визначення до молекулярного хлору, усувають маскуванням їх сульфатом ртуті (II) в кількості 22,2 мг HgSO<sub>4</sub> на 1 мг Cl<sup>-</sup>. Утворений хлорид ртуті (II), що дуже мало дисоціює, є досить стійким навіть у присутності великої концентрації сірчаної кислоти та біхромату. Перешкоджають визначенню нітрити, які часто присутні у стічних водах, що пройшли біохімічну очистку. Для їх усунення в колбу вводять по 10 мг сульфамінової кислоти на 3 мг NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. При кип'ятінні розчину нітрит-іони відновлюються до молекулярного азоту, а надлишок сульфамінової кислоти переходить в сульфат амонію:



Прискорений метод визначення ХСК призначений для постійних щоденних аналізів, що проводяться для контролю роботи очисних споруд або стану води у водоймі. Результати визначення в порівнянні з арбітражним методом зазвичай досить добре відтворювані. Головна особливість прискореного методу- підвищена концентрація та витрата сульфатної кислоти.

### **Хід роботи**

Відбирають 30 см<sup>3</sup> проби води (або менший об'єм, доведений до 30 см<sup>3</sup> дистильованою водою, на окиснення якого витрачалось не більше 50% добавленого біхромату калію) в термостійку плоскодонну колбу місткістю 100 см<sup>3</sup>, додають при перемішуванні 40 см<sup>3</sup> концентрованої сульфатної кислоти, 10,0 см<sup>3</sup> розчину біхромату калію з концентрацією 0,1 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту, 0,4 г сульфату срібла, 0,2 г сульфату ртуті. Для рівномірного кипіння в колбу кидають 2-3 капіляри, накривають колбу склянню воронкою і кип'ятять вміст на піщаній бані протягом 10 хвилин.

Після охолодження, переносять пробу в конічну колбу місткістю 300 см<sup>3</sup>, двічі споліскуючи колбу, де кип'ятилася проба, дистильованою водою (по 20-30 см<sup>3</sup>). Додають 10 крапель розчину фенілантранілової кислоти і титрують надлишок непрореагованого біхромату калію розчином солі Мора 0,1 г/моль еквіваленту до переходу забарвлення індикатора з червоно-фіолетового в синювато-зелений.

Аналогічним чином проводять холостий дослід з 30 см<sup>3</sup> дистильованої води і встановлюють титр розчину солі Мора. Поправочний коефіцієнт К розраховують за формулою:

$$K = \frac{10}{V} \quad (5)$$

де 10 - об'єм розчину біхромату калію, якій доданий в холосту пробу до кип'ятіння, см<sup>3</sup>; V - об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування в холостому досліді, см<sup>3</sup>

Біхроматну окисність (ХСК), мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>, розраховують за формулою:

$$ХСК = \frac{[(V_1 - V_2)] \cdot N \cdot K \cdot 8 \cdot 1000}{V_{пр}} \quad (6)$$

де V<sub>1</sub> – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування в холостому досліді, см<sup>3</sup>; V<sub>2</sub> – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування проби досліджуваної води після кип'ятіння, см<sup>3</sup>; N – концентрація титрованого розчину солі Мора, моль/дм<sup>3</sup>еквіваленту; 8 – еквівалент кисню, г/моль; V<sub>пр</sub>- об'єм проби води, який взятий для аналізу, см<sup>3</sup>

### **Біохімічне споживання кисню (БСК)**

**Мета роботи:** вивчення узагальненого показника забруднення води органічними речовинами, що біологічно розкладаються; самостійне визначення біохімічного споживання кисню та аналіз отриманих результатів.

**Матеріальне забезпечення та реактиви:** вага лабораторна 3 класу точності, термостат з повітряним охолодженням, що забезпечує постійну температуру 20±1 °С, компресор, колби мірні місткістю 100, 500, 1000 см<sup>3</sup>, піпетки, циліндри мірні, бюретки місткістю 25 см<sup>3</sup>, колби конічні плоскодонні місткістю 300 см<sup>3</sup>, калібровані кисневі склянки. *Реактиви:* розчин тіосульфату натрію 0,05 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту, фосфатний буферний розчин з рН 7,2, розчин сульфату магнію, розчин хлориду кальцію, розчин хлориду заліза, розчин сульфату марганцю, лужний розчин йодиду калію, 40% розчин сульфатної кислоти, 0,5% розчин крохмалю.

**Загальні відомості.** Біохімічним споживанням кисню (БСК) називається кількість кисню, виражена в мг, необхідна для окиснення органічних речовин, що знаходяться в 1 дм<sup>3</sup> води, в аеробних умовах в результаті біохімічних процесів, що відбуваються у воді, тобто це оцінка рівня забруднення через споживання кисню, що відображає активність

бактерій, які розкладають органіку. Окиснення здійснюється аеробними гетеротрофними бактеріями. Цей процес можна описати як окиснення органіки біологічним шляхом, що завершується утворенням діоксиду вуглецю і води.

Біохімічне окислення різних речовин відбувається з різною швидкістю. До легкоокиснюваних («біологічно м'яких») речовин відносять формальдегід, нижчі аліфатичні спирти, фенол, фурфурол та ін. Середнє положення займають крезолі, нафтоли, ксиленоли, резорцин, пірокатехин, аніоноактивні ПАР та ін. Повільно руйнуються «біологічно жорсткі» речовини: гідрохінон, сульфенол, неіоногенні ПАР та ін. Кількість кисню, що витрачається для окиснення амонійного азоту до нітритів і нітратів, при визначенні БСК не враховується.

Визначення БСК у поверхневих водах використовується як інтегральний показник забруднення води біохімічно окиснюваних органічних речовин, для оцінки умов проживання у водоймах гідробіонтів, при контролі ефективності роботи очисних споруд та станцій аерації.

Сезонні зміни показника БСК залежать в основному від зміни температури і від вихідної концентрації розчиненого кисню. Вплив температури позначається через її вплив на швидкість процесу споживання кисню, яка збільшується в 2-3 рази при підвищенні температури на 10°C.

Вплив початкової концентрації кисню на процес біохімічного споживання кисню пов'язаний з тим, що значна частина мікроорганізмів має свій кисневий оптимум для розвитку в цілому і для фізіологічної та біохімічної активності.

У лабораторних умовах визначають БПК<sub>5</sub> (біохімічна потреба в кисні за 5 діб), БПК<sub>20</sub> (біохімічна потреба в кисні за 20 діб) і БСК<sub>n</sub> (повне біохімічне споживання кисню, необхідне для окислення органічних домішок до початку процесу нітрифікації) при 20°C.

Залежно від категорії водойми величина БПК<sub>5</sub> регламентується наступним чином: не більше 3 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> для водойм господарсько-питного водокористування і не більше 6 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> для водойм господарсько-побутового та культурного водокористування. Для морів (I і II категорії рибогосподарського водокористування) п'ятидобова потреба в кисні (БПК<sub>5</sub>) при 20°C не повинна перевищувати 2 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>, для питної води показник БПК<sub>5</sub> не перевищує 3,0 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>.

Підвищений рівень БСК вказує на більш високу концентрацію біорозкладних органічних речовин у стічних водах, що може бути ознакою того, що мікроорганізми на очисних спорудах можуть відчувати підвищене навантаження.

Цей показник особливо важливий для контролю якості стічних вод, оскільки велика кількість розчинених органічних речовин може спричинити ріст бактерій, які споживають кисень. Це може призвести до кисневого голодування водних екосистем.

Промисловим підприємствам необхідно підтримувати рівновагу, при якій рівень БСК відображає контрольовану кількість органічних речовин, забезпечуючи загальну ефективність систем біологічного очищення.

**Сутність методу.** Сутність методу визначення біохімічного споживання кисню (БСК) у воді полягає у вимірюванні кількості кисню, витраченого мікроорганізмами на аеробне окиснення органічних речовин за певний час (зазвичай 5 або 20 діб) при температурі 20°C. Пробу води витримують у герметично закритих посудинах без доступу світла, вимірюючи концентрацію кисню до і після інкубації.

Існують три основні варіанти визначення рівня БСК в залежності від якості досліджуваної води:

*а)* питні, відносно чисті природні та очищені стічні води із передбачуваними величинами БСК<sub>5</sub> до 6 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> аналізують як натуральну пробу без попереднього розведення;

*б)* розведення проби води для визначення БСК необхідно, якщо очікуване значення БСК перевищує 6 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> (господарсько-побутові стічні води), щоб забезпечити достатню кількість кисню для мікроорганізмів протягом 5 діб інкубації. Використовується розбавляюча вода, насичена киснем, а ступінь розведення підбирається так, щоб витрата кисню становила близько 50%. Для розведення використовують дистильовану воду, насичену киснем (8-10 мг/дм<sup>3</sup>), з додаванням поживних речовин (фосфати, сульфат магнію, хлорид кальцію, хлорид заліза);

*в)* якщо досліджувана вода (наприклад, промислова стічна або дезінфікована) містить мало власних мікроорганізмів, у розбавляючу воду спеціально вносять «посів» — адаптовану культуру бактерій з добавками, що пригнічують нітрифікацію.

Для визначення масової концентрації розчиненого кисню використовують йодометричний (скляночний) метод, заснований на вимірюванні масової концентрації розчиненого кисню шляхом йодометричного титрування в первинній збагаченій розчиненим киснем пробі води до інкубації та після її інкубації протягом 5 діб за стандартних умов (температура 20°C, відсутність доступу кисню та світла). За різницею вмісту розчиненого кисню встановлюється значення БСК<sub>5</sub>.

### **Хід роботи**

*а) визначення БСК<sub>5</sub> в натуральній пробі (без розведення)*

Проби для визначення БСК<sub>5</sub> не консервують, а аналізують відразу після відбору. Для визначення БСК<sub>5</sub> пробу води відбирають у колбу місткістю 2 дм<sup>3</sup>. Температура води повинна бути 20±1°C; якщо температура інша, то в лабораторії воду підігрівають на водяній бані або

охладжують до необхідної температури і на протязі однієї хвилини за допомогою компресора насичують пробу киснем повітря. Потім скляну трубку сифона занурюють на дно кисневої склянки і після витіснення води (в трикратному обсязі) наповнюють склянки водою доверху і негайно закривають скляною пробкою, щоб не залишалося бульбашок повітря. Потім цю ж воду наливають у ковпачки від склянок, і, перевернувши останні догори дном, вставляють їх у ковпачки, витісняючи з останніх воду, щоб бульбашки повітря не потрапили в ковпачки.

В одній зі склянок з досліджуваною водою негайно визначають розчинений кисень. Іншу склянку поміщують у нормальному положенні в термостат і зберігають при плюс 20°C (з коливаннями температури  $\pm 1^\circ\text{C}$ ) протягом 5 діб. Час між заповненням склянок і фіксацією кисню при визначенні його концентрації в нульовій пробі не повинен перевищувати 15 хвилин.

Відразу ж після заповнення кисневої склянки фіксують розчинений кисень, для чого в склянку з пробною водою вводять окремими піпетками 1 см<sup>3</sup> (при місткості склянки до 150 см<sup>3</sup>) або 2 см<sup>3</sup> (при місткості більше 150 см<sup>3</sup>) розчину хлориду (сульфату) марганцю і 1 або 2 см<sup>3</sup> лужного розчину йодиду калію (при місткості склянки до 150 см<sup>3</sup> і більше 150 см<sup>3</sup> відповідно). Піпетку занурюють кожен раз на половину склянки і в міру виливання розчину піднімають вгору. Потім швидко закривають склянку скляною пробкою таким чином, щоб у ній не залишалося бульбашок повітря, і вміст ретельно перемішують 15-20-кратним перевертанням склянки до рівномірного розподілу осаду у воді. Склянку з зафіксованою пробною поміщають у тепле місце для відстоювання (не менше 10 хвилин і не більше 24 годин).

Після того, як відстоюний осад займатиме менше половини висоти склянки, до проби доливають 5 см<sup>3</sup> або 10 см<sup>3</sup> (залежно від місткості склянки) розчину сульфатної 40% кислоти, занурюючи при цьому піпетку до осаду (не збовтувати) і повільно піднімаючи її вгору в міру спорожнення. Витіснення зі склянки частини прозорої рідини для аналізу значення не має. Склянку закривають пробкою і вміст ретельно перемішують. Після розчинення осаду розчин з склянки переливають в конічну колбу ємкістю 300 см<sup>3</sup>, додають декілька крапель свіжоприготовленого 0,5% розчину крохмалю і титрують 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчином тіосульфату натрію до зникнення синього забарвлення.

Концентрацію розчиненого кисню, мг/дм<sup>3</sup>, розраховують за формулою:

$$C_{O_2} = \frac{V \cdot N \cdot 8 \cdot 1000}{V_{ск} - V_p} \quad (7)$$

де  $V_1$  – об'єм тіосульфату натрію, витрачений на титрування досліджуваної води,  $\text{см}^3$ ;  $N$  – концентрація тіосульфату натрію, моль/ $\text{дм}^3$  еквіваленту;  $V_{\text{ск}}$  – об'єм кисневої склянки,  $\text{см}^3$ ;  $V_p$  – об'єм реагентів, внесених для фіксації розчиненого кисню,  $\text{см}^3$ ;  $8$  – еквівалент кисню, г/моль

Біохімічне споживання кисню ( $\text{БСК}_5$ ),  $\text{мгO}_2/\text{дм}^3$ , розраховують за формулою:

$$\text{БСК}_5 = C_{\text{O}_2}^0 - C_{\text{O}_2}^5 \quad (8)$$

де  $C_{\text{O}_2}^0$  – концентрація розчиненого кисню в нульовий день до інкубації,  $\text{мг}/\text{дм}^3$ ;  $C_{\text{O}_2}^5$  – концентрація розчиненого кисню на п'ятий день після інкубації,  $\text{мг}/\text{дм}^3$ ;

*в) визначення  $\text{БСК}_5$  в пробі води з розведенням*

Необхідне розведення можна орієнтовно розрахувати за результатом визначення ХСК досліджуваної проби води наступним чином. Значення ХСК в  $\text{мгO}_2/\text{дм}^3$  ділять на 4 або 5 (значення, яке відповідає приблизно половині вмісту кисню в чистій розбавляючій воді). Отриманий результат показує, у скільки разів потрібно розбавити аналізовану пробу води.

Дистильовану воду, призначену для приготування розбавляючої води, перед використанням насичують киснем повітря за допомогою повітряного компресора протягом не менше 1 хвилини. Можна насичувати дистильовану воду киснем вистоюванням на повітрі не менше 24 годин або інтенсивно струшуючи бутлі, заповнені на 2/3 об'єму.

До 1  $\text{дм}^3$  дистильованої води додають 1  $\text{см}^3$  фосфатного буферного розчину, 1  $\text{см}^3$  розчину магнію сірчаноокислого, 1  $\text{см}^3$  розчину кальцію хлористого, 1  $\text{см}^3$  розчину заліза хлорного. Ретельно перемішують і залишають на (3 - 5) хв до зникнення дрібних бульбашок повітря. Розведення проводять наступним чином. В мірну колбу ємкістю 500  $\text{см}^3$  додають розрахований об'єм аналізованої проби води і до мітки доливають за допомогою сифону розбавляючу воду, яка насичена киснем. Колбу закривають пробкою та ретельно перемішують.

Розбавлену таким чином досліджувану воду сифоном наливають доверху в дві калібровані кисневі склянки. Таким же чином в дві інші кисневі склянки наливають розбавляючу воду. Відразу визначають концентрацію розчиненого кисню в нульовий день для розбавляючої та досліджуваної води. Кисневі склянки для визначення розчиненого кисню через 5 діб ставлять в термостат при 20  $^\circ\text{C}$ .

Біохімічне споживання кисню ( $\text{БСК}_5$ ),  $\text{мгO}_2/\text{дм}^3$ , розраховують за формулою:

$$БСК_5 = \frac{[(C_{O_2}^0 - C_{O_2}^5) - (C_{O_2}^{0*} - C_{O_2}^{5*})] \cdot 500}{V_{пр}} \quad (8)$$

де  $C_{O_2}^0$  – концентрація розчиненого кисню в нульовий день до інкубації, мг/дм<sup>3</sup>;  $C_{O_2}^5$  – концентрація розчиненого кисню на п'ятий день після інкубації, мг/дм<sup>3</sup>;  $C_{O_2}^{0*}$  – концентрація розчиненого кисню в нульовий день в розбавляючій воді до інкубації, мг/дм<sup>3</sup>;  $C_{O_2}^{5*}$  – концентрація розчиненого кисню в розбавляючій воді на п'ятий день після інкубації, мг/дм<sup>3</sup>; 500 – об'єм мірної колби для розбавлення проби, см<sup>3</sup>,  $V_{пр}$  – об'єм проби, взятий для розбавлення, см<sup>3</sup>

### Контрольні запитання.

1. Що таке перманганатна окислюваність (ПО).
2. Сутність метода Кубеля?
3. Залежність якості води від окиснюваності.
4. Сутність поняття «хімічне споживання кисню» (ХСК).
5. Які речовини окислюються в умовах визначення ХСК?
6. У чому полягає суть методу зворотного титрування?
7. Що таке біохімічне споживання кисню (БСК) і чим воно відрізняється від хімічного (ХСК)?
8. Які види мікроорганізмів беруть участь у процесі біохімічного окислення?
9. Яка температура і чому вона повинна підтримуватися при визначенні БСК<sub>5</sub>?

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №3

**Вивчення токсичної дії ксенобіотиків на мікроорганізми. Визначення концентрації фенолів та поверхнево-активних речовин у природних та стічних водах.**

### *Визначення масової концентрації фенолу у воді*

**Мета роботи:** ознайомлення з методом визначення масової концентрації летких з паром фенолів в межах, допустимих для проведення хімічного аналізу без попередньої екстракції хлороформом (від 0,1 мг/дм<sup>3</sup>).

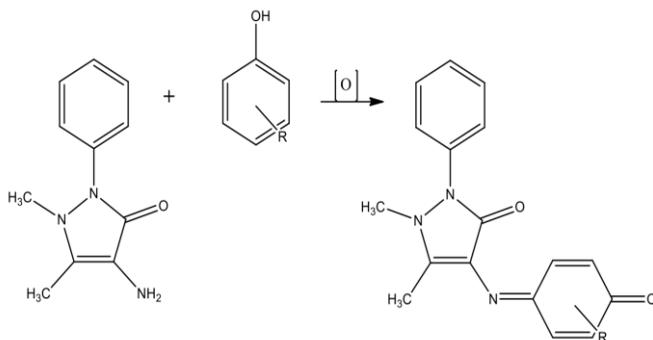
**Матеріальне забезпечення та реактиви:** фотоелектроколориметр КФК-3, укомплектований кюветами 50 мм, вага лабораторна 2 класу, рН-метр, колби мірні місткістю 100, 500 см<sup>3</sup>, піпетки, циліндри мірні, колби конічні місткістю 250 см<sup>3</sup>, прилад для перегонки фенолів. **Реактиви:** персульфат амонію 20% розчин, аміачний буферний розчин, рН 10, 4-аміноантипірін 2% розчин, 12% розчин сірчаної кислоти міді, розчин (1:9) фосфатної кислоти, 0,05 моль/дм<sup>3</sup>еквіваленту розчин гідроксиду натрію, 1 моль/дм<sup>3</sup>еквіваленту розчин гідроксиду натрію.

**Загальні відомості:** Наявність фенолу у воді створює серйозні проблеми, оскільки він є високотоксичною речовиною, що впливає на

нервову систему, нирки, може спричинити хімічні опіки та параліч, а також надає воді неприємного "аптечного" запаху, особливо при хлоруванні (утворюючи хлорфеноли). Феноли потрапляють у промислові стоки під час виготовлення барвників, у процесі переробки кам'яного вугілля та у виробництві дубильних речовин. Фенольні стоки серйозно змінюють концентрацію кисню в річковій воді. У спекотний сезон швидкість розпаду фенолів у природних водоймах збільшується, в зимовий період процеси сповільнюються. Фенол добре розчиняється у воді, але важко піддається біорозкладу.

Іншим джерелом присутності у воді різних фенолів і поліфенолів може бути звичайний природний процес розкладання гумусу, що створює фонову присутність фенолів у поверхневих джерелах. Проте, як і багато інших природних процесів, цей знаходиться в рівновазі, не приводячи до підвищення концентрації фенолів у водоймі без будь-якого впливу на систему ззовні.

**Сутність методу.** Фотометричний метод вимірювання масової концентрації фенолу ґрунтується на взаємодії фенолу з 4-аміноантипірином у лужному середовищі (рН 10±0,2) у присутності персульфату амонію в якості окисника з утворенням антипіритного барвника. Реакція проходить за схемою:



Оптимальним для вимірювання концентрації фенолу фотометричним методом на приладі КФК-3 є оптична густина при довжині хвилі світлофільтра  $\lambda = 510$  нм та кювета 50 мм.

За градувальним графіком та розрахунком визначають масову фенолу у воді.

### Хід роботи

*Попередня відгонка летких з паром фенолів*

Пробу води, відібраної для аналізу об'ємом  $500 \text{ см}^3$ , або аліквоту проби води, до якої додають дистильовану воду до  $500 \text{ см}^3$ , вміщують у колбу приладу для відгонки фенолу (рис. 1), контролюючи значення рН, яке повинно бути менше 4,0 од рН, додаючи  $5 \text{ см}^3$  12% розчину міді сірчанокислої і  $10 \text{ см}^3$  розчину (1:9) фосфатної кислоти.

В приймальний стакан вміщують  $10 \text{ см}^3$   $0,05 \text{ моль/дм}^3$  еквіваленту розчину гідроксиду натрію і встановлюють так, щоб нижній кінець алонжу був занурений в цей розчин. Відгонку ведуть при помірному нагріванні. Відгоняють  $450 \text{ см}^3$ , потім дистиляцію припиняють і після припинення кипіння, в колбу для відгонки додають ще  $50 \text{ см}^3$  дистильованої води. Дистиляцію продовжують до тих пір, поки не буде зібрано  $500 \text{ см}^3$  відгону.

Після закінчення відгонки перевіряють рН відгону. Якщо він виявляється кислим, його нейтралізують  $1 \text{ моль/дм}^3$  еквіваленту розчином гідроксиду натрію.

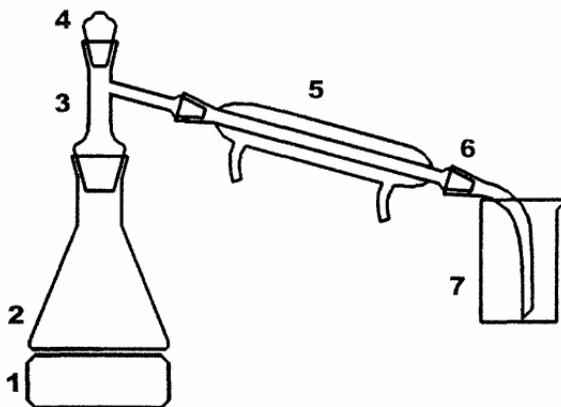


Рис. 1. Прилад для відгонки фенолу

1-електроплитка, 2- плоскодонна колба для відгонки, 3-насадка, 4- пробка, 5- холодильник, 6 – алонж, 7- приймальний стакан

*Вимірювання масової концентрації фенолів у діапазоні  $0,1-50 \text{ мг/дм}^3$  з відгонкою без подальшої екстракції хлороформом.*

Відбирають аліквотну частину відгону, яка містить  $0,1-0,5 \text{ мг}$  фенолу (не менше  $10$  та не більше  $100 \text{ см}^3$ ), переносять в мірну колбу місткістю  $100 \text{ см}^3$  та розводять дистильованою водою до  $100 \text{ см}^3$ .

Паралельно проводять холостий дослід з  $100 \text{ см}^3$  дистильованої води. Отримані розчини переливають в конічні колби місткістю  $250 \text{ см}^3$ . Додають  $1,0 \text{ см}^3$  буферного розчину, перевіряють значення рН, яке повинно бути в межах  $(10 \pm 0,2)$  од. рН за допомогою рН- метра,  $2,0 \text{ см}^3$  2% розчину

4-аміноантипіріна та після перемішування доливають 2,0 см<sup>3</sup> 20% розчину персульфату амонію.

Через 15 хвилин за допомогою фотоелектроколориметра КФК-3 вимірюють оптичну густину досліджуваного розчину по відношенню до холостої проби при довжині хвилі  $\lambda = 510$  нм в кюветах 50 мм. За градувальним графіком знаходять графічне значення масової концентрації фенолу.

Масову концентрацію фенолу в пробі води ( $C_{\phi}$ ), мг/дм<sup>3</sup>, розраховують за формулою:

$$C_{\phi} = \frac{C_{сп} \cdot 500 \cdot 100}{V_1 \cdot V_2}; \quad (9)$$

де  $C_{сп}$  - масова концентрація фенолу, знайдена за градувальним графіком, мг/дм<sup>3</sup>;  $V_1$  - об'єм проби, взятий для відгонки, см<sup>3</sup>;  $V_2$  - об'єм аліквоти, взятий для фотометрування, см<sup>3</sup>; 100 - максимальний об'єм аліквоти дистилату, см<sup>3</sup>; 500 - об'єм, до якого розбавлена проба для відгонки, см<sup>3</sup>.

Результат обчислень заокруглюють і записують до другої значущої цифри.

**Увага!** Всі досліди з відгонкою фенолу необхідно проводити в лабораторній витяжній шафі.

### ***Визначення масової концентрації аніонних поверхнево-активних речовин у воді***

**Мета роботи:** ознайомлення з методом визначення масової концентрації аніонних поверхнево-активних речовин у воді екстракційно-фотометричним методом в діапазоні концентрацій 0,015-0,25 мг/дм<sup>3</sup> без розведення проби

**Матеріальне забезпечення та реактиви:** фотоелектроколориметр КФК-3, укомплектований кюветами 30 мм, вага лабораторна 2 класу, рН- метр, колби мірні місткістю 100, 500 см<sup>3</sup>, піпетки, циліндри мірні, колби конічні місткістю 250 см<sup>3</sup>, воронка розподільна місткістю 250 см<sup>3</sup>. **Реактиви:** хлороформ, фосфатний буферний розчин, нейтральний та кислий розчини метиленового синього.

**Загальні відомості:** Проблема ПАР (поверхнево-активних речовин) у воді полягає в їх токсичності для живих організмів, порушенні екосистем. Наявність ПАР у природній воді навіть у низьких концентраціях: призводить до загибелі організмів: п'явок, моллюсків; при високих (15-20 мг/дм<sup>3</sup>) у риб пошкоджуються зябра, гинуть активні мули.

Погіршуються органолептичні властивості води (колір, запах). Дуже повільне розкладання призводить до їх накопичення та зниження кисневого режиму водойм, що згубно для водного життя. При попаданні в організм людини ПАР навантажуючи печінку і нирки, руйнуючи захисні бар'єри шкіри.

ПАР потрапляють у воду з побутовими стоками (пральні порошки, миючі засоби), з промисловими відходами.

**Сутність методу.** Метод визначення масової концентрації аніонних поверхнево-активних речовин у воді заснований на тому, що вони утворюють з катіоактивним метиленовим синім комплексні асоціати, які розчиняються у хлороформі з утворенням синіх розчинів. Сам метиленовий синій в хлороформі не розчиняється. В цьому методі екстракцію вказаної комплексної сполуки хлороформом проводять спочатку в лужному середовищі (буферний розчин з рН10), а потім сполучені хлороформі екстракти промивають кислим розчином метиленового синього. Таке подвійне екстрагування дозволяє усунути вплив на результат хлоридів, нітратів та білків.

#### **Хід роботи**

100 см<sup>3</sup> проби води або менший об'єм, який містить 0,01-0,25 мг/дм<sup>3</sup> ПАР, доведений до 100 см<sup>3</sup> дистильованою водою, переносять в розподільну воронку місткістю 250 см<sup>3</sup>, додають 10 см<sup>3</sup> фосфатного буферного розчину (рН10), 5 см<sup>3</sup> нейтрального розчину метиленового синього. Вміст воронки ретельно перемішують та залишають на 15 хвилин.

Потім додають 8 см<sup>3</sup> хлороформу, суміш енергійно струшують на протязі 1 хвилини та залишають відстоюватись до повного розділення шарів. Далі зливають хлороформний екстракт в таку ж розподільну воронку, в яку попередньо наливають 110 см<sup>3</sup> дистильованої води та 5 см<sup>3</sup> кислого розчину метиленового синього. В першу воронку ще додають 5 см<sup>3</sup> хлороформу, струшують 1 хвилину та хлороформний екстракт знову зливають в другу розподільну воронку.

Третю екстракцію проводять аналогічним способом з 4 см<sup>3</sup> хлороформу. Після цього вміст другої воронки струшують 1 хвилину та залишають до розділення шарів. Екстракт зливають у мірну колбу місткістю 50 см<sup>3</sup> через воронку з ватою, яка просочена хлороформом, для видалення каламуті. Доводять вміст колби до об'єму 50 см<sup>3</sup> хлороформом та перемішують. Забарвлений хлороформний розчин переносять в кювету фотоколориметра з товщиною шара 30 мм та вимірюють оптичну густину відносно холостої проби, якою є хлороформ, при довжині хвилі світлофільтра  $\lambda = 650$  нм.

Результат визначення масової концентрації аніонних поверхнево-активних речовин у воді ,мг/дм<sup>3</sup>, знаходять за градувальним графіком та розрахунком:

$$C_{\text{ПАР}} = \frac{C_{\text{сп}} \cdot 100}{V_{\text{пр}}}; \quad (10)$$

де  $C_{\text{гр}}$  - масова концентрація поверхнево-активних речовин, знайдена за градуовальним графіком, мг/дм<sup>3</sup>; 100 – об'єм, до якого розводиться проба води для аналізу, см<sup>3</sup>;  $V_{\text{пр}}$  - об'єм проби води, взятий для аналізу, см<sup>3</sup>

Результат обчислень заокруглюють і записують до другої значущої цифри.

Примітка. Забруднений метиленовим синім посуд промивають розведеною азотною кислотою, потім водою.

**Увага!** Всі дослід з використанням хлороформу необхідно проводити в лабораторній витяжній шафі.

### Контрольні запитання

1. Які джерела забруднення води фенолами та ПАР?
2. Як впливають на стан водойми та мікроорганізми феноли та ПАР, що потрапляють зі стічними водами?
3. Як впливає присутність ПАР у стічних водах на очищення шляхом відстоювання, флотації?
4. На чому ґрунтуються методики визначення фенолів та ПАР у воді?
5. З яких основних етапів складається визначення фенолу та аніоноактивних ПАР?
6. У чому суть екстракційного метода визначення ПАР?
7. Опишіть загальні принципи фотоколориметрії.
8. Як за результатами вимірювань (оптичної густини) розрахувати концентрацію фенолу та ПАР у воді?
9. Як усувають негативний вплив хлоридів у стічній воді при визначенні ПАР?
10. Як відмивають хімічний посуд від залишків метиленового синього?
11. Правила охорони праці при роботі з фенолом та хлороформом.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №4

### Моделювання процесу біологічної очистки стічних вод з вмістом фенолів.

**Мета роботи:** ознайомитися з фільтруючими властивостями активованого мулу; здійснити очистку забрудненої фенолом стічної води.

**Матеріальне забезпечення та реактиви:** фотоелектроколориметр, пілотна установка, вага лабораторна 2 класу, рН-метр, колби мірні місткістю 100, 500 см<sup>3</sup>, піпетки, циліндри мірні, колби конічні місткістю 250 см<sup>3</sup>, прилад для перегонки фенолів, скляні колби або бюретки промислова стічна вода, активований намул. *Реактиви:* персульфат амонію 20% розчин, аміачний буферний розчин, рН 10,

4-аміноантипірін 2% розчин, 12% розчин сірчаноокислої міді, розчин (1:9) фосфатної кислоти, 0,05 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту розчин гідроксиду натрію, 1 моль/дм<sup>3</sup> еквіваленту розчин гідроксиду натрію.

**Загальні відомості:** [11, стор. 4-14].

Біофільтр представляє собою скляну колонку висотою 300 мм, заповнену збортаною суспензією активованого мулу висотою шару 150-200 мм. Для запобігання проходження активного мулу до збірної ємності, на дно колонки вкладається клаптик склової тканини. Перед заповненням колонки активованим мулом необхідно промити водопровідною водою об'ємом 0,5 дм<sup>3</sup>. Колонка біофільтра обладнана гумовими патрубками з запірними пристроями, необхідними для регулювання швидкості фільтрування.

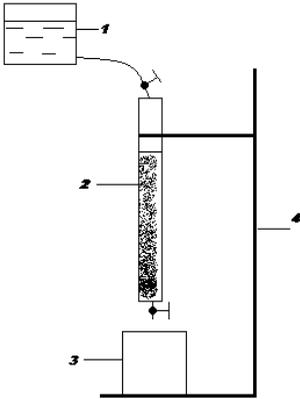


Рис 2. Схема пілотної установки: 1 – ємність постійного рівня; 2 – колонка моделі біофільтра заповнена суспензією активованого мулу; 3 – збірна ємність; 4 – утримуючий штатив.

### Хід роботи

1. Вода подається на фільтр (рис.2) зверху вниз із швидкістю фільтрування  $V=1-2$  м/год. Швидкість фільтрування визначається за формулою:

$$V^a = \frac{Q}{F}, \text{ м/год} \quad (11)$$

де  $F$  - площа фільтра, м<sup>2</sup>;  $Q$  - витрата води, в м<sup>3</sup>/год, яка проходить через колонку біофільтра, визначається об'ємним способом:

$$Q = \frac{W}{t}, \text{ м}^3/\text{год} \quad (12)$$

де  $W$  - об'єм мірної колби, м<sup>3</sup>;  $t$  - час наповнення мірної колби, год.

Площа фільтра:

$$F = \frac{\pi \cdot d^2}{4} = \frac{3,14 \cdot 0,02^2}{4} = 0,000314 \text{ м}^2 \quad (13)$$

де  $d$  – діаметр колонки, м

**Приклад:** якщо  $W=100 \text{ см}^3 = 0,1 \text{ дм}^3 = 0,0001 \text{ м}^3$ , а час її наповнення становить  $t = 5 \text{ хв} = 0,83 \text{ год}$ , то витрата води, яка проходить через колонку біофільтра:

$$Q = \frac{0,0001}{0,83} = 0,012 \text{ м}^3/\text{год} \quad (14)$$

для даного випадку швидкість фільтрування:

$$V = \frac{0,0012}{0,000314} = 3,84 \text{ м/год} \quad (15)$$

2. Відбирають  $100 \text{ см}^3$  промислової стічної води в окрему колбу та залишають для визначення початкової концентрації фенолу. Досліджувану стічну воду пропускають через колонку з активним мулом з розрахунковою швидкістю і на протязі встановленого часу (через 5 хвилин) з води, що витікає з колонки, відбирають по  $100 \text{ см}^3$  проби в окремі колби.

3. Вміст фенолів у воді до і після пропускання через активний мул визначають фотометричним методом вимірювання масової концентрації фенолу, який ґрунтується на взаємодії фенолу з 4- аміноантипірином у лужному середовищі (рН  $10 \pm 0,2$ ) у присутності персульфату амонію в якості окисника з утворенням антипіритного барвника (лабораторна робота №3)

4. Ефективність видалення фенолу з стічної води розраховують за формулою:

$$E = \frac{C_{\text{вхід}}^{\text{фенол}} - C_{\text{вихід}}^{\text{фенол}}}{C_{\text{вхід}}^{\text{фенол}}} \times 100\% \quad (16)$$

5. Досліди повторюють при швидкостях фільтрування 1-2 м/год

Результати досліджень заносять до таблиці 3.

Таблиця 3

№ дослідю	W, м <sup>3</sup>	t, год	Q, м <sup>3</sup> /год	V, м/год	C <sub>фенол вхід</sub>	C <sub>фенол вихід</sub>	E, %
1							
2							
3							
4							
5							

6. На основі розрахунків роблять висновки про здатність активного мулу видаляти фенол з стічної води.

### Контрольні запитання.

1. Що представляють собою пластівці активного мулу? 2. Який активний мул використовується в очисних спорудах? 3. Як поведуть себе нитчасті бактерії *Sphaerotilus natans* при порушенні технологічного режиму? 4. Які бактерії використовуються при деструкції фенолів? 5. Яку функцію виконують міцеліальні (цвілеві) гриби в активному мулі аеробних очисних споруд? 6. Які функції в активному мулі виконують простіші? 7. Як розрахувати швидкість фільтрування вихідної води через колонку з активним мулом? 8. Фактори впливу на параметри росту біологічних агентів. 9. Кінетичні основи зростання культур мікроорганізмів-деструкторів. 10. Характеристика ступеня біорозкладності розчиненої органіки в стічних водах.

### ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №5.

#### Використання методу оптичної мікроскопії для експрес-аналізу біоценозу активного мулу очисних споруд. Визначення дози активного мулу.

**Мета роботи:** проведення гідробіологічного аналізу активного мулу та біоплівки.

**Матеріальне забезпечення:** мікроскоп біологічний; предметні скельця; піпетки; пробірки.

**Загальні відомості:** [1: 4, стор. 9-15; 11, стор. 14-19; 29-40; 12].

#### Хід визначення.

Відбір проб для мікроскопування:

**а) активний мул.**

З аеротенка відбирається мулова рідина в пробірку в кількості 7-10 см<sup>3</sup>. Мул відстоюванням відокремлюється від рідини (2-3 хвилини) і потім піпеткою з широким отвором відбирається для мікроскопування.

**б) біоплівка.**

З різних горизонтів біофільтра відбирається засипний матеріал (шлак, щебінь, керамзит, волокно та ін.), вміщується у фарфорову чашку і заливається невеликою кількістю дистильованої води. Для мікроскопування біоплівка відбирається піпеткою з широким отвором.

**Послідовність опису активного мулу і біоплівки**

1. Швидкість осідання мулу (швидко, повільно).
2. Колір мулу (бурий, чорний, білуватий тощо).
3. Вода над мулом (прозора, каламутна, забарвлена).

Подальший опис ведуть при мікроскопуванні. Необхідно продивитись не менш ніж 10 полів зору.

4. Щільність та розмір пластівця (щільний, роздріблений, крупний, дрібний).

5. Присутність сторонніх вкраплень.

6. Склад гідробіонтів.

7. Кількість гідробіонтів за п'ятибальною системою (див. нижче).

8. Наявність грибів та нитчастих бактерій.

9. Наявність вільноплаваючих бактерій (багато, мало).

10. Форми бактерій, які переважають (дрібні палички, крупні палички). Пункти 4-7 описуються за використання малого збільшення (об'єктиви 4, 10), а 8 та 9 – за великого (об'єктив 40).

Кількість організмів оцінюється за п'ятибальною системою хрестиками.

Один – поодинокі,

два – мало,

три – чимало,

чотири – багато,

п'ять – масовий розвиток.

Відмічається також стан організмів, їх рухливість, робота війкового апарату.

**Завдання:**

1. Промікроскопувати та дати опис зразків активного мулу та біоплівки (по схемі).

2. Назвати переважаючі форми гідробіонтів, їх види [11]. Дати кількісну оцінку розвитку гідробіонтів за п'ятибальною системою.

3. Зробити висновок про стан активного мулу і біоплівки.

## Визначення мулового індексу.

**Мета:** визначити величину мулового індексу.

**Матеріальне забезпечення:** вага аналітична 2 класу точності, сушильна шафа (105°C), циліндри мірні місткістю 500 см<sup>3</sup>; колби мірні місткістю 0,1; 0,25; 0,5 дм<sup>3</sup>; лійки хімічні; паперові фільтри для кількісного визначення (біла стрічка), які висушені в бюксах приблизно 1 годину при 105°C до постійної маси і зважені; ексикатор

### Хід роботи.

#### Визначення дози мулу за масою.

1. Активний мул з аеротенку добре перемішують і відбирають порцію мулової суміші точно 25 або 50 см<sup>3</sup> у мірний циліндр з таким розрахунком, щоб кількість сухої речовини в пробі не перевищувала 0,3–0,4 г.

2. З'єднують колбу Бунзена з водоструминним насосом, вкладають у воронки Бюхнера фільтр, попередньо висушений, зважений на аналітичних вагах і позначений олівцем (рис.3)

3. Висушений фільтр кладуть так, щоб він щільно прилягав до стінок воронки, був написом вниз, і змочують його дистильованою водою.

4. Відміряну кількість мулової суміші з циліндра пропускають через фільтр, розподіляючи його рівномірно по поверхні фільтра. Мул, який пристав до стінок циліндра, змивають на фільтр невеликими порціями дистильованої води, доливаючи її після того, як вся рідина пройде через фільтр, щоб уникнути змучування мулу.



Рис 3. – Прилад для фільтрування

5. Після того, як рідина на фільтрі добре відфільтрована, фільтр з мулом переносять на аркуш фільтрувального паперу і поміщають у невиключену (холодну) сушильну шафу, так як мул являє собою

слизоподібну масу, яка запікається при різкому нагріванні, і результат може бути завищеним.

6. Потім шафу вмикають у мережу, помічають час, коли температура підніметься до 105-120 °С, після чого сушать 30-60 хвилин до постійної маси.

7. Висушений фільтр з мулом охолоджують в ексикаторі і зважують на аналітичних вагах.

8. Дозу активного мулу  $a_i$ , г/дм<sup>3</sup>, визначають за формулою:

$$a_i = \frac{1000(b - c)}{V}; \quad (17)$$

де  $b$  – вага фільтра з мулом, г;  $c$  – вага чистого фільтра, г;  $V$  – об'єм профільтрованої мулової суміші, см<sup>3</sup>; 1000 – перерахунок на 1 дм<sup>3</sup>.

#### **Контрольні запитання:**

1. Надати характеристику сполук, які входять до складу активного мулу. 2. За яким принципом відбувається об'єднання окремих членів мікробного співтовариства в біологічній плівці? 3. Перерахуйте стадії формування біологічної плівки. 4. Які бактерії та гриби розмножуються у верхньому шарі завантаження біофільтрів висотою до 0,5 м? 5. В чому полягає різниця між біоценозами біоплівки та активного мулу? 6. Яку роль в активному мулі виконують нитчасті бактерії? 7. Які мікроорганізми розкладають целюлозне волокно? Назвіть оптимальні параметри середовища для їх розвитку. 8. Яку роль у бактеріальному співтоваристві очисних споруд відіграють бактерії-нітрифікатори? 9. Які функції простіших в активному мулі? 10. Як визначити дозу активного мулу за масою?

#### **Література**

1. Гвоздяк П. І. Біохімія води. Біотехнологія води (автомонографія). Київ : Видавничий центр «Київо-Могілянська академія», 2019. 228 с.
2. ДСТУ ISO 9963-1:2007. Якість води. Визначення лужності. Частина 1. Визначення загальної та часткової лужності (ISO 9963-1:1994, IDT).
3. ДСТУ ISO 5815-1:2009 Якість води. Визначення біохімічного споживання кисню після  $n$  днів (БСК<sub>n</sub>). Частина 1. Метод розведення та засівання з додаванням алітїосечовини (ISO 5815-1:2003, IDT)
4. Саблій Л. А., Жукова В. С., Козар М. Ю. Біотехнології очищення води. Лабораторний практикум : навчальний посібник для здобувачів ступеня бакалавра за освітньою програмою «Біотехнології» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Електронне мережне навчальне видання. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. 53 с.

5. МВВ 081/12-0317-06 Поверхневі, підземні та зворотні води. Методика виконання вимірювань водневого показника (рН) електрометричним методом (1-10 од. рН).
6. МВВ № 081/12-0109-03 Поверхневі, підземні та зворотні води. Методика виконання вимірювань масової концентрації сухого залишку (розчинених речовин) гравіметричним методом (50-10000 мг/дм<sup>3</sup>).
7. МВВ 081/12-0016-01 Поверхневі води. Методика виконання вимірювань перманганатної окислюваності.
8. Методика визначення хімічного споживання кисню (ХСК) в поверхневих і стічних водах: КНД 211.1.4.021-95.
9. МВВ № 081/12-0119-03 Поверхневі, підземні та зворотні води. Методика виконання вимірювань масової концентрації летких з паром фенолів з використанням 4-аміноантипірину (0,001-50,0 мг/дм<sup>3</sup>).
10. 03-06-148М Методичні вказівки до вивчення лекційного курсу з дисципліни «Якісні показники природних та стічних вод» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 192 «Будівництво та цивільна інженерія» («Водопостачання та водовідведення») всіх форм навчання. [Електронне видання] / Квартенко О. М. Рівне : НУВГП, 2025. 96 с.
11. Методичні вказівки до вивчення лекційного курсу з навчальної дисципліни «Сучасні біотехнології в галузі очищення води» для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня за освітньо-професійною програмою «Біотехнології» спеціальності G21 «Біотехнології та біоінженерія» [Електронне видання] / Квартенко О.М. Рівне : НУВГП, 2025. 95 с.
12. Хижняк М. І., Євтушенко М. Ю., Рудик-Леуська Н. Я. Гідробиологія. Практикум. Частина 1. : навчальний посібник. Київ : Центр учбової літератури, 2017. 516 с.

## Характеристика активного мулу в різних умовах

*Задовільно працюючий мул* характеризується присутністю різноманітних найпростіших. Іноді зустрічаються *Lionotus*, *Podophrya*, *Vorticella microstoma*, джгутикові та дрібні амеби. Постійно присутні черевійчасті та круговійчасті інфузорії. Бактерії – переважно в зооглейних скупченнях. Всі організми рухливі, у жвавому стані. Пластівці мулу компактні та швидко осідають. Вода над мулом прозора.

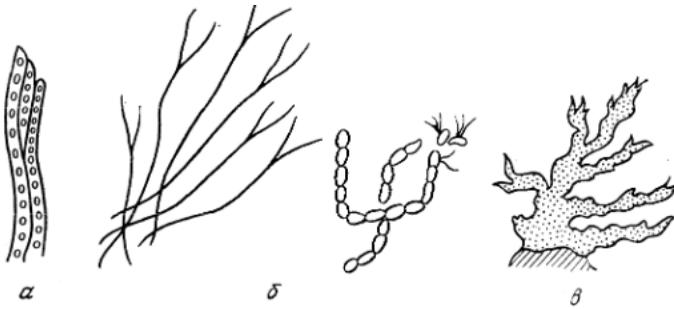
*Голодуючий мул.* Цей стан характерний у випадку низької концентрації органічних речовин у стічній воді. При цьому найпростіші поступово дрібнішають, стають прозорими, інфузорії перетворюються на цисти. Коловертки утворюють цисти пізніше, ніж інфузорії. Сірка в клітинах нитчастих сіркобактерій зникає. Зооглеї та пластівці мулу стають прозорими. Вода над мулом каламутна.

*Нитрифікуючий мул.* У випадку нестачі органічного живлення та надлишку мінерального азоту, в стічних водах, може утворюватись значна кількість нітритів та нітратів. При цьому в воді присутні в помітній кількості коловертки (*Callidina*, *Rotatoria* та інші); переважають *Peritricha* (*Vorticella convallaria*, *Carchesium*), *Arcella*, крупні амеби, розвиваються *Zoogloea ramigera*. Пластівці мулу пухкі, після осідання спливають.

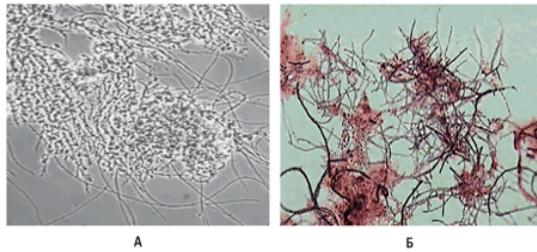
*Перевантажений мул.* Пластівці мулу містять механічні включення. *Vorticella* має замкнений війчастий диск. У випадку, коли активний мул не справляється із забрудненнями, для біоценозу мулу характерна мала різноманітність видів при кількісній перевазі двох, трьох з них. Спостерігається велика кількість безбарвних джгутикових, дрібних амеб, *Lionotus* або дрібних інфузорій. Мул забруднений різноманітними вкрапленнями: органічними аморфними частинками, сміттям. Пластівці мулу темні, густі. Вода над мулом з опалесценцією.

*При нестачі розчиненого кисню* вортицели відриваються від стебельця та утворюють особливу вільноплаваючу форму з вінцем війок на задньому кінці. *Opercularia* - інфузорії з замкненим війчастим диском, дрібні, нерухомі. Коловертки – залякли у витягнутому стані. У великій кількості з'являються джгутикові, з інфузорій переважають *Paramaecium caudatum*, так як є більш стійкими до нестачі кисню. Пластівці мулу при цьому розпадаються. Вода над мулом каламутніє.

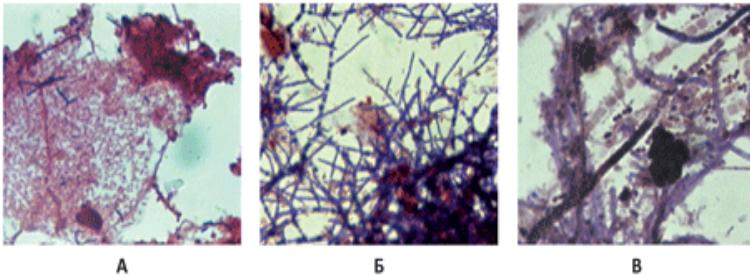
*Слухаючий мул.* Масовий розвиток нитчастих бактерій та грибів витиснює зооглейні скупчення, що призводить до поганого осідання активного мулу та виносу його з вторинного відстійника. Очистка при цьому погіршується. Незважаючи на те, що нитчасті бактерії та гриби є добрими мінералізаторами, побічні явища, викликані їх масовим розвитком, знижують ефект очистки.



Нитчасті та зооглійні бактерії: а – *Sphaerotilus natans*; б – *Cladothrix dichotoma*; в – *Zooglea ramigera*



Філаментні бактерії в активному мулі (а) та філаментні бактерії *M. parvicella* (б)



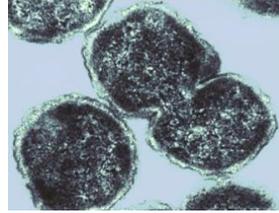
Мікроскопічна картина стану активного мулу: А – Здоровий активний мул; Б - розпухлий активний мул; В - піна активного мулу

Додаток 3

У бактеріальному співтоваристві очисних споруд виділяють бактерії-нітрифікатори (рр. *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* та ін.) у зв'язку з їх роллю в окисленні амонійних іонів та видаленні мінерального азоту зі стічних вод.

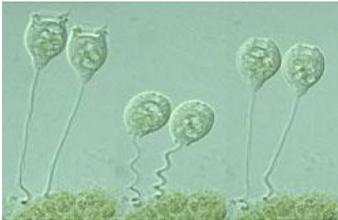


*Nitrosomonas*



*Paracoccus denitrificans*

Найпростіші в активному мулі представлені саркодовими (*Sarcodina*), джгутиковими інфузоріями (*Mastigophora*), віїчастими інфузоріями (*Ciliata*) і смоктальними інфузоріями (*Suctoria*).



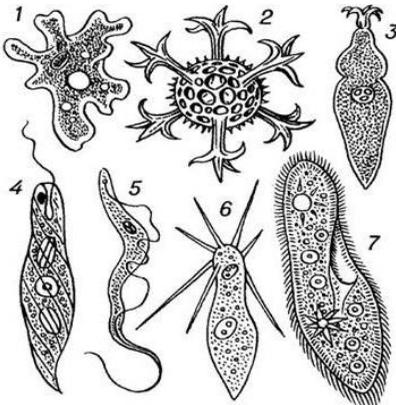
*Vorticella convallaria*



*Suctoria*



*Opercularia* sp.



Клас *Sarcodina*



віїчасті інфузорії *Ciliata*

Біоценоз активного мулу